



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**CARRERA DE AGROINDUSTRIAL**

**TÍTULO**

Revisión sistemática de métodos analíticos sobre extracción de proteína vegetal

**Trabajo de Titulación para optar al título de**

Ingeniero Agroindustrial

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Autor:**

María Gabriela Taimal Chano

**Tutora:**

Dra. Ana Mejía López

**Riobamba – Ecuador**


**2021**

## **DERECHOS DE AUTORÍA**

Yo María Gabriela Taimal Chano, con cédula de ciudadanía 180472659-2, autora del trabajo de investigación titulado: “Revisión sistemática de métodos analíticos sobre extracción de proteína vegetal”, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de mí exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autora de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 29 Septiembre 2021



---

María Gabriela Taimal Chano

C.I: 180472659-2

## **DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL**

Quienes suscribimos, catedráticos designados Tutor y Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación “Revisión sistemática de métodos analíticos sobre extracción de proteína vegetal”, presentado por María Gabriela Taimal Chano, con cédula de identidad número 180472659-2, certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha asesorado durante el desarrollo, revisado y evaluado el trabajo de investigación escrito y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 02 de Diciembre 2021.

PhD. Silvia Hipatia Torres Rodriguez  
PRESIDENTA DEL TRIBUNAL  
DEGRADO



Firmado electrónicamente por:  
**SILVIA HIPATIA  
TORRES  
RODRIGUEZ**

Mgs. Fabián Patricio Carrillo Flor  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE  
GRADO



Firmado electrónicamente por:  
**FABIAN  
PATRICIO  
CARRILLO FLOR**

Mgs. Daniel Alejandro Luna Velasco  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE  
GRADO



Firmado electrónicamente por:  
**DANIEL  
ALEJANDRO LUNA  
VELASCO**

Dra. Ana Hortencia Mejía López  
TUTOR



Firmado electrónicamente por:  
**ANA  
HORTENCIA**

María Gabriela Taimal Chano

C.I:180472659-2

## **CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL**

Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación “Revisión sistemática de métodos analíticos sobre extracción de proteína vegetal” por María Gabriela Taimal Chano, con cédula de identidad número 180472659-2, bajo la tutoría de Dra. Ana Hortencia Mejía López; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 02 de Diciembre 2021.

Presidente del Tribunal de Grado  
PhD. Silvia Hipatia Torres Rodriguez



Firmado electrónicamente por:  
**SILVIA HIPATIA  
TORRES  
RODRIGUEZ**

Miembro del Tribunal de Grado  
Mgs. Fabián Patricio Carrillo Flor



Firmado electrónicamente por:  
**FABIAN  
PATRICIO  
CARRILLO FLOR**

Miembro del Tribunal de Grado  
Mgs. Daniel Alejandro Luna Velasco



Firmado electrónicamente por:  
**DANIEL  
ALEJANDRO LUNA  
VELASCO**

# CERTIFICADO ANTIPLAGIO



DIRECCIÓN ACADÉMICA  
VICERRECTORADO ACADÉMICO



UNACH-RGF-01-04-02.20

## CERTIFICACIÓN

Que, **TAIMAL CHANO MARÍA GABRIELA** con CC: **180472659-2**, estudiante de la Carrera de **INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**, Facultad de **INGENIERÍA**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado "**Revisión sistemática de métodos analíticos sobre extracción de proteína vegetal**", que corresponde al dominio científico **Desarrollo territorial, productivo y hábitat sustentable para mejorar la calidad de vida** y alineado a la línea de investigación **Investigaciones multi interdisciplinarias que Involucren sistemas de producción de materias primas y producción agroindustrial**, cumple con el **3%**, reportado en el sistema Anti plagio **UKUND**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 15 de septiembre de 2021



Firmado electrónicamente por:

**ANA  
HORTENCIA**

---

Dra. Ana Mejía López  
**TUTOR**

## **DEDICATORIA**

*A mis padres, Milton y María, ustedes son el pilar fundamental de mi vida, gracias por todo el esfuerzo, la paciencia, los consejos y el amor que me brindan día a día. Siempre estaré agradecida eternamente con ustedes papitos porque me enseñaron que la constancia y la perseverancia me harán llegar muy lejos, esta meta no es solo mía sino también de ustedes.*

*A mis hermanos Lizardo y Erika porque siempre han estado conmigo apoyándome y aminándome en cada etapa de mi vida.*

*María Gabriela Taimal*

## **AGRADECIMIENTO**

*A Dios, quien con su bendición supo darme salud, vida para culminar esta etapa de mi vida y sabiduría para vencer cada obstáculo que se me presentó en el transcurso de mi carrera universitaria.*

*Les agradezco a mis padres quienes me enseñaron a luchar en la vida, por siempre estar apoyándome en los momentos alegres de mi vida y aún más en los momentos difíciles.*

*A mi hermana quien me apoyo y me motivo en mi formación académica, creyendo en mí en todo momento y no dudar de mis habilidades, por siempre estar en las buenas y en las malas en el transcurso de mi carrera universitaria.*

*A mi familia por sus consejos y apoyo incondicional durante este proceso.*

*Mi profundo agradecimiento a la Universidad Nacional de Chimborazo, a la Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Agroindustrial, por la formación académica brindada que ha sido de gran utilidad para poder desempeñarme de la mejor manera en la realización de la tesis de grado. A la Dra. Anita Mejía por su asesoría, paciencia, conocimientos y dirección en el trabajo de investigación.*

*A mis amigos porque con cada uno de ustedes tengo bonitos recuerdos les aprecio por como son y siempre es llevare en mi corazón.*

*Y a todos los que permitieron la culminación de la tesis nunca los olvidare gracias por todo.*

*María Gabriela Taimal Chano*

## ÍNDICE GENERAL

<b>DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL</b> .....	III
<b>CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL</b> .....	IV
<b>CERTIFICADO ANTIPLAGIO</b> .....	V
<b>DEDICATORIA</b> .....	VI
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	VII
<b>RESUMEN</b> .....	XIII
<b>ABSTRACT</b> .....	XIV
<b>CAPÍTULO I</b> .....	1
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. Antecedentes .....	1
1.2. Planteamiento del problema .....	2
1.3. Justificación .....	2
1.4. Objetivos .....	3
1.4.1. General .....	3
1.4.2. Específicos .....	3
<b>CAPÍTULO II</b> .....	4
<b>2. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE</b> .....	4
2.1. MARCO TEÓRICO .....	4
2.1.1. Proteína .....	4
2.1.1.1. Estructuras de las Proteína .....	4
2.1.1.2. Propiedades Funcionales de la Proteínas .....	5
2.1.2. Vegetales .....	5
2.1.2.1 Leguminosas .....	5
2.1.2.2. Cereales .....	6
2.1.3. Extracción de proteínas .....	7
2.1.3.1. Tipos de proteínas que se extrae en diferentes vegetales: .....	8
2.2. Estado de arte .....	9
<b>CAPÍTULO III</b> .....	11
<b>3. METODOLOGÍA</b> .....	11
3.1. Tipo de investigación .....	11
3.2. Diseño de Investigación .....	11
3.2.1. Criterios de inclusión .....	11
3.2.2. Criterios de exclusión .....	11
3.3. Método de Análisis .....	12



3.4. Población y tamaño de la muestra.....	12
3.5. Técnica de recolección de datos.....	12
4.1. Resultados.....	14
4.1.1. Matriz comparativa de los métodos de extracción de proteína vegetal.....	19
4.2. Discusiones.....	20
<b>CAPÍTULO V.....</b>	<b>28</b>
<b>5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>28</b>
5.1. Conclusiones.....	28
5.2. Recomendaciones.....	28
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>30</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Composición Nutricional por cada 100g de leguminosas.....	6
<b>Tabla 2:</b> Composición Nutricional por cada 100g de cereal .....	7
<b>Tabla 3:</b> Tipos de proteínas que se extrae en diferentes vegetales .....	8
<b>Tabla 4:</b> Métodos utilizados para la extracción de proteína vegetal .....	15
<b>Tabla 5:</b> Resumen de los resultados de cada artículo.....	17
<b>Tabla 6:</b> Matriz Comparativa .....	19
<b>Tabla 7:</b> Precios de los equipos .....	20
<b>Tabla 8:</b> Materiales y Equipos método alcalino .....	25
<b>Tabla 9:</b> Materiales y Equipos del método ultrasonido.....	26

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Diagrama de flujo. Proceso de selección de estudios.....	12
<b>Figura 2:</b> Equipo ultrasonido .....	27

## ANEXOS

<b>Anexo 1:</b> Procedimientos de los métodos.....	33
<b>Anexo 2:</b> Lista de verificación PRISMA .....	35
<b>Anexo 3:</b> Diagrama de Flujo PRISMA.....	36
<b>Anexo 4:</b> Centrífuga.....	36
<b>Anexo 5:</b> Ultrasonido.....	36
<b>Anexo 7:</b> Sonicación .....	37
<b>Anexo 6:</b> Liofilizadora.....	37

## RESUMEN

Actualmente existe una gran demanda de proteína ya sean procedentes de materias primas vegetales o animales, así mismos existe numerosas tecnologías y métodos para su aislamiento, por lo que el presente trabajo de investigación se desarrolló con la finalidad de revisar los métodos analíticos utilizados para la extracción de proteína de origen vegetal. Este estudio es de revisión sistemática y utilizando el método PRISMA se seleccionó 13 artículos que una vez analizados se determinó que los métodos de extracción de proteína vegetal más utilizados son: método alcalino, extracción enzimática, ultrasonido, sonicación y fenol- tris. Se concluye que la extracción alcalina es un método fácil de utilizar y consiste en solubilizar las proteínas regulando el pH mediante la utilización de un ácido y una base, la temperatura y el tiempo de extracción son también factores que influyen en el rendimiento de obtención de proteínas, mientras que el método de ultrasonido es rápido, limpio, económicamente rentable y amigable con el medio ambiente porque no se utiliza ningún reactivo químico. Se describen los protocolos de estos dos métodos de extracción de proteínas para ser utilizados por estudiantes y docentes de la Carrera de Agroindustrial para diversas investigaciones.

**Palabras claves:** extracción de proteína, proteína vegetal, método alcalino, método de ultrasonido.

## ABSTRACT

Currently there is a great demand for protein, whether from vegetable or animal raw materials, likewise there are many technologies and methods for its isolation, so the research work was developed in order to review the analytical methods used for extraction of protein of vegetable origin. This study is a systematic review and using the PRISMA method, 13 articles were selected that once analyzed, it was determined that the most widely used vegetable protein extraction methods are: alkaline method, enzymatic extraction, and ultrasound, sonication and phenol- tris. We concluded that alkaline extraction is an easy method to use and consists of solubilizing the proteins regulating the pH through the use of an acid and a base, the temperature and the extraction time are also factors that influence the performance of obtaining, while the ultrasound method is fast, clean, economically profitable and friendly with the environment because no chemical reagent is used. The protocols of these two protein extraction methods are described to be used by students and teachers of the Agroindustrial Career for various investigations.

Keywords: protein extraction, vegetable protein, alkaline method, method the ultrasound.



Firmado electrónicamente por:  
**DANILO RENEE**  
**YEPEZ OVIEDO**

Reviewed by:  
Danilo Yèpez Oviedo  
English professor UNACH

# CAPÍTULO I.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Antecedentes

Los vegetales se han usado a lo largo de la historia de la humanidad como ingredientes básicos para la alimentación, debido a que son benéficos para la salud. Por lo cual los seres humanos han realizado diversas investigaciones entre ellas la extracción de las proteínas, con el fin de obtener mayores beneficios de este alimento.

Las proteínas son biomoléculas estructurales y esenciales para las células en todos los seres vivos, y se requiere una ingesta de manera regular y variada, para el buen funcionamiento del organismo. Los seres humanos no son capaces de producir toda la gama de aminoácidos requeridos para su funcionamiento, y en este caso, las leguminosas y los cereales proveen la variedad suficiente, como para ser considerado un suplemento nutricional adecuado. (Urrutia, 2016)

Las proteínas son componentes importantes en la dieta humana, ya que son esenciales para el mantenimiento de la masa muscular y reparación de células dañadas. (Leppa et al ., 2018)

Durante el siglo XIX se presenta la primera extracción de proteínas en la cual se realizó tratamientos para la obtención de albúmina de huevo, con reportes que permitían aislar sustancias similares en plantas. Conforme se realizaban distintas investigaciones se obtuvo como primer producto proteína de origen animal, la misma que es consumida por sus altos índices proteicos. Gallegos et al . (2018)

Acorde avanzaban las investigaciones se registraban análisis con diferentes resultados, pues al revisar muestras vegetales las mismas aportaban mayor calidad y beneficio en cuanto a alimentación y salud de la población.

Las leguminosas son una rica fuente de proteínas y carbohidratos que las hacen valiosas como ingredientes alimenticios por tanto existe un gran interés en la elaboración de productos a partir de estas proteínas, debido a que se obtienen por distintos procesos de extracción para posteriormente proceder a evaluar las propiedades funcionales que determinan el uso de los aislados proteicos en distintos alimentos transformados. (Vinson, 2018)

## **1.2. Planteamiento del problema**

Las proteínas son un componente básico de una alimentación equilibrada; funcionan como ladrillos capaces de construir y regenerar las células de nuestro organismo, por lo que es necesario consumirlas en las cantidades adecuadas durante el día y se pueden obtener por alimentos de origen animal o vegetal. (McCarthy, 2017)

Actualmente existe una gran demanda de materias primas ricas en proteínas para la alimentación humana que además de presentar un alto valor nutricional puedan obtenerse a costos adecuados, esta demanda crea la necesidad de desarrollar tecnologías y métodos para el aislamiento de este macronutriente para que satisfagan estos requerimientos. (Lafarga, 2019)

Debido al gran avance que se ha producido en los últimos años en el ámbito de la investigación científica, se dispone cada vez de más información y cada vez más compleja sobre métodos de análisis y extracción de las proteínas.

## **1.3. Justificación**

Por la diversidad de métodos y trabajos de investigación publicados que se encuentran en revistas científicas y varios repositorios universitarios, se propuso una revisión sistemática que tiene como enfoque la extracción de proteína vegetal.

Esta investigación consiste en resumir de forma ordenada los artículos seleccionados y proponer un protocolo para la extracción de proteína vegetal, los cuales servirán como referente



en posteriores investigaciones tecnológicas y en aplicación de actividades prácticas para los estudiantes de Ingeniería Agroindustrial.

#### **1.4. Objetivos**

##### **1.4.1. General**

- Revisar los métodos analíticos utilizados en diferentes investigaciones para extraer proteína vegetal.

##### **1.4.2. Específicos**

- Realizar mediante una revisión sistemática de las técnicas y métodos de extracción de proteína vegetal.
- Analizar las técnicas y métodos más empleados en la extracción de proteína vegetal.
- Proponer un protocolo para la extracción de proteína vegetal aplicado en el laboratorio de ingeniería agroindustrial.

## **CAPÍTULO II.**

### **2. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE**

#### **2.1. MARCO TEÓRICO**

##### **2.1.1. Proteína**

Las proteínas son uno de los macronutrientes que encontramos en los alimentos junto a los hidratos de carbono y lípidos. Son los elementos básicos del cuerpo, esenciales en todo el metabolismo. Su principal función no es energética sino estructural, es decir, contribuyen a la formación, desarrollo y renovación de todos los órganos y sistemas del organismo y desempeña también un gran número de funciones en las células de los seres vivos. Las proteínas son macromoléculas que están formadas por carbono, oxígeno, hidrógeno y nitrógeno fundamentalmente, aunque también pueden contener minerales como azufre, hierro y fósforo. (Sanz, 2017)

Las proteínas, a diferencia de otras moléculas biológicas como carbohidratos y lípidos son únicos macronutrientes que no tiene un compuesto inactivo que sirva como reservorio. Siendo así, las proteínas contráctiles del músculo esquelético, son el método de reserva más grande y responden de forma anabólica a la alimentación. Las proteínas vegetales son nutrientes que el organismo utiliza para el crecimiento y la reparación de los tejidos, para la síntesis de enzimas y hormonas. (Sanz, 2017)

##### **2.1.1.1. Estructuras de las Proteína**

Las proteínas son moléculas muy complejas; presentan una estructura lógica y funcional específica para cada una de ellas; tienen como características común que sus unidades estructurales son aminoácidos se encuentran unidos entre sí mediante uniones covalentes conocidos como enlaces peptídicos y, según el tamaño de las cadenas, pueden ser desde una

simple unión de dos aminoácidos llamados dipéptido, hasta grandes macromoléculas de proteína, pasando por las de tamaño mediano o polipéptidos. (Alvares et al 2013)

### **2.1.1.2. Propiedades Funcionales de la Proteínas**

Las propiedades funcionales de las proteínas han sido definidas como cualquier propiedad fisicoquímica de las proteínas, que afecta el comportamiento y características de los alimentos en los cuales se encuentran o son agregadas y que contribuye a la calidad final del producto.

Propiedades de hidratación, que dependen principalmente de la interacción proteína- agua y son aquellas como la absorción y retención agua, solubilidad, dispersabilidad y viscosidad.

Propiedades que dependen de la interacción proteína-proteína y son aquellas como la gelificación, coagulación, elasticidad, dureza y adhesividad.

Propiedades de superficie que dependen de la interacción de la proteína con dos fases inmiscible: agua/ aceite, agua/ aire que son emulsificación, espumado y capaz de enlazar lípidos. (Alvares et al 2013)

### **2.1.2. Vegetales**

Son aquellos que surgen de la Tierra, seres autótrofos captadores de energía de fuentes no aprovechables para el reino animal. Los vegetales cumplen un papel primordial dentro de las dietas balanceadas por su gran contenido nutritivo. Por lo general, los alimentos vegetales suelen ser ricos en carbohidratos complejos, proteínas y en fibra. (Verdini, 2018)

#### **2.1.2.1 Leguminosas**

Las leguminosas se cosechan únicamente para obtener la semilla seca, tienen un alto contenido de proteínas, por lo que son una fuente ideal de proteína, en particular en regiones donde la carne y los lácteos no son física o económicamente accesibles. Las leguminosas son bajas en grasa y ricas en fibra soluble, que puede reducir el colesterol y ayudar a controlar el azúcar en la sangre. En la tabla 1 se evidencia la composición nutricional por cada 100g de leguminosas,

debido a estas cualidades, son recomendadas por las organizaciones sanitarias para hacer frente a las enfermedades no transmisibles, como la diabetes y las dolencias cardíacas. (Sanz, 2017)

**Tabla 1**

*Composición Nutricional por cada 100g de leguminosas*

<b>Nombre</b>	<b>Nombre científico</b>	<b>Energía (kcal)</b>	<b>Proteína (g)</b>	<b>Grasa (g)</b>	<b>Fibra (g)</b>	<b>Carbohidratos (g)</b>
Haba	<i>Vicia Faba</i>	300	26.1	1.8	26.3	31.7
Lentejas	<i>Lens culinaris</i>	336	25.4	1.8	10.7	49.3
Frijoles negros	<i>Phaseolus vulgaris</i>	288	21.3	1.2	21.8	37
Frijoles blancos	<i>Phaseolus vulgaris</i>	315	22.3	1.5	15.3	45.5
Frijoles rojos	<i>Phaseolus vulgaris</i>	314	22.5	1.06	15.2	46.1
Garbanzos	<i>Cicer arietinum</i>	340	21.2	5.4	12.4	45.5
Arveja	<i>Pisum sativum</i>	308	18.44	1.4	26	42.4
Chocho	<i>Lupinus albus</i>	356	36.17	9.74	18.9	21.47
Maní	<i>Arachis hypogaea</i>	571	30	50	7	23
Soja	<i>Glycine max</i>	398	35.9	18.6	15.7	26.8

*Nota:* Datos tomados de FAO (2016)

### **2.1.2.2. Cereales**

Los cereales son una fuente abundante de proteínas de origen vegetal que desempeñan un papel fundamental en la nutrición y roles en los alimentos. En general, los atributos funcionales de estas proteínas están determinadas por su singularidad molecular, estructura y propiedades fisicoquímicas. Investigadores, han trabajado durante décadas para optimizar su extracción de

fuentes naturales, modificar sus estructuras moleculares para extender su funcionalidad, establecer la base molecular de su funcionalidad, y dilucidar su contribución a la calidad de alimentos específicos. (Liquiang et al., 2018)

En la tabla 2 se puede observar la gran variación del porcentaje de proteínas y otros nutrientes de varios cereales.

**Tabla 2**

*Composición Nutricional por cada 100g de cereal*

Nombre	Nombre científico	Energía (kcal)	Proteína (g)	Grasa (g)	Calcio (mg)	Hierro (mg)
Maíz	<i>Zea mays</i>	353	9,4	3,8	10	2,5
Arroz	<i>Oryza sativa</i>	364	7,5	1,0	7	1,5
Trigo	<i>Triticum</i>	323	12,6	1,8	36	4,0
Quínoa	<i>Chenopodium quinoa</i>	306	16,5	6,3	127	12

*Nota:* Datos tomados de FAO (2012)

### 2.1.3. Extracción de proteínas

Las proteínas presentes en los vegetales son de tipo intracelular, por lo que es necesario la aplicación de métodos para la ruptura de las paredes celulares y así recuperar la mayor cantidad de compuestos de interés. Estos métodos pueden ser mecánicos y no mecánicos. (Vega, 2017)

**Métodos mecánicos:** Son métodos basados en el uso de la fricción y de fuerzas de corte cuyo objetivo es deformar la célula hasta su ruptura. Dentro de los principales métodos se encuentran el uso de molinos y equipos de ultrasonido. (Vega, 2017)

**Métodos no mecánicos:** Se basan en tratamientos de separación de componentes e hidrolisis de las paredes celulares mediante el uso de métodos químicos o enzimáticos, por lo que facilita la extracción de las proteínas. (Vega, 2017)

### 2.1.3.1. Tipos de proteínas que se extrae en diferentes vegetales:

La complejidad y la diversidad son características predominantes de las proteínas, por lo tanto, resulta difícil establecer una clasificación rigurosa; sin embargo, los diversos métodos para clasificarlas se basan en cuatro criterios fundamentales: composición, forma, solubilidad y función biológica. Los tipos de proteínas más utilizadas para fines prácticos es de acuerdo a su solubilidad. (Alvares et al 2013)

Albúminas: solubles en agua y en soluciones salinas diluidas; precipitan en soluciones de sulfato de amonio a una concentración cercana a la saturación. (Alvares et al 2013)

Globulinas: generalmente insolubles en agua pero solubles en soluciones salinas diluidas, ejemplo de éstas es la miosina. (Alvares et al 2013)

Prolaminas: estas proteínas son solubles en etanol 50-80%. Constituyen un grupo cuyo nombre se originó por el alto contenido de prolina y nitrógeno amídico proveniente de la glutamina, que es el aminoácido presente en las altas cantidades y que juntos en algunos casos llegan a ser hasta el 50% del nitrógeno del grano. (Alvares et al 2013)

Glutelinas: que se caracterizan por ser solubles en medio ácido o alcalino, como es la oricenina del arroz. Las glutelinas cuyo representante más conocido son los aislados de trigo. (Alvares et al 2013)

**Tabla 3**

*Tipos de proteínas que se extrae en diferentes vegetales*

<b>Tipos de proteína extraída</b>	<b>Vegetales</b>
Albúmina	Lentejas, Garbanzos
Globulina	Haba, Frijoles, Arveja, Soja.
Glutelina	Chocho, Maíz, Arroz, Quínoa.
Prolaminas	Maní, Trigo

Elaborado por: Taimal. G. (2021)

## **2.2. Estado de arte**

Existen diferentes formas de extraer la proteína en muestras vegetales, se mencionan algunas de ellas:

Según (Gokhale et al., 2019) en su investigación sobre la optimización de la extracción de proteína de semillas de sangri, utiliza el método alcalino el que permite separar medios de diferentes densidades donde las partículas con mayor densidad se sedimentan al fondo, mientras que los componentes de menor densidad se quedan en el medio en el sobrenadante, las partículas que se separan naturalmente durante un largo periodo de tiempo.

Según (Yaned et al., 2017) en su investigación realizada sobre la Optimización del protocolo para la extracción y la cuantificación de proteínas totales en semillas de maíz, utiliza el método de agitación orbital el cual ocupa tres solventes diferentes como: el TCA, Tris-HCl y Tris-Base con la ayuda de los movimientos de las bandejas y el calor se puede remover los líquidos para separar la parte líquida de la sólida de la proteína.

Según (Lamsal et al, 2020) en su investigación sobre sonicación de alta potencia de proteínas de soja, utiliza tratamientos de ultrasonidos donde las ondas sonoras ayudan a disminuir la oxidación de la proteína debido a que puede aumentar la cantidad de flavonoides con actividad de extinción de radicales y recuperar las isoflavonas durante la extracción.

Según (Chen et al., 2019) en su estudio sobre la extracción de proteína de maní maneja el método enzimático, este método se basa en la capacidad inherente de las enzimas para catalizar reacciones mediante la degradación o alteración de las paredes celulares permitiendo así una mejor liberación y extracción de proteínas.

Según (Lamsal et al., 2019) quién investigó sobre el efecto del pretratamiento de ultrasonido de alta potencia sobre la extracción de las proteínas de garbanzo, frejol y soja, establece que el

método de ultrasonido es un proceso que ayuda acelerar la solubilización de la proteína por lo cual se obtiene rendimientos altos de la misma. Este proceso es económicamente rentable en el ámbito alimentario.



## **CAPÍTULO III.**

### **3. METODOLOGÍA**

#### **3.1. Tipo de investigación**

El presente estudio está diseñado como una revisión bibliográfica sistemática y está orientado en la búsqueda de información acerca de los métodos de extracción de proteína de origen vegetal, para proponer un protocolo que se pueda utilizar en futuras investigaciones en los laboratorios de la carrera de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Chimborazo.

#### **3.2. Diseño de Investigación**

Las principales fuentes y base de datos utilizadas en la investigación fueron: Google Académico, Scopus, Hindawi, utilizando palabras claves como “extracción de proteína vegetal”; “obtención de proteínas”; “procesos de extracción” y “métodos de extracción de proteínas”, también se identificó el idioma y los años de publicación

Para esta revisión se aplicó 2 criterios de selección:

##### **3.2.1. Criterios de inclusión**

Se incluyeron artículos científicos que contenían temas sobre la extracción de proteína vegetal. Con el criterio de no menos de 5 años de publicación y sobre todo que su información sea actualizada y que contengan el procedimiento de extracción de proteína vegetal.

##### **3.2.2. Criterios de exclusión**

Se excluyeron los artículos cuyo contenido no aporte de manera específica al objeto de estudio como los que analizan o extraigan proteínas de origen animal o las investigaciones no cuenten con una información relevante y completa al tema.

### 3.3. Método de Análisis

En la presente investigación se aplicó el método PRISMA (Artículos de informes preferidos para revisiones sistemáticas y meta-analizados), el que consistió en una lista de comprobación de 27 ítems (Anexo 2) y un diagrama de flujo de cuatro fases (Figura 1) el mismo que permitió seleccionar los distintos artículos, así como revisiones sistemáticas de otros tipos de investigación para la optimización en la clasificación de la información.

### 3.4. Población y tamaño de la muestra

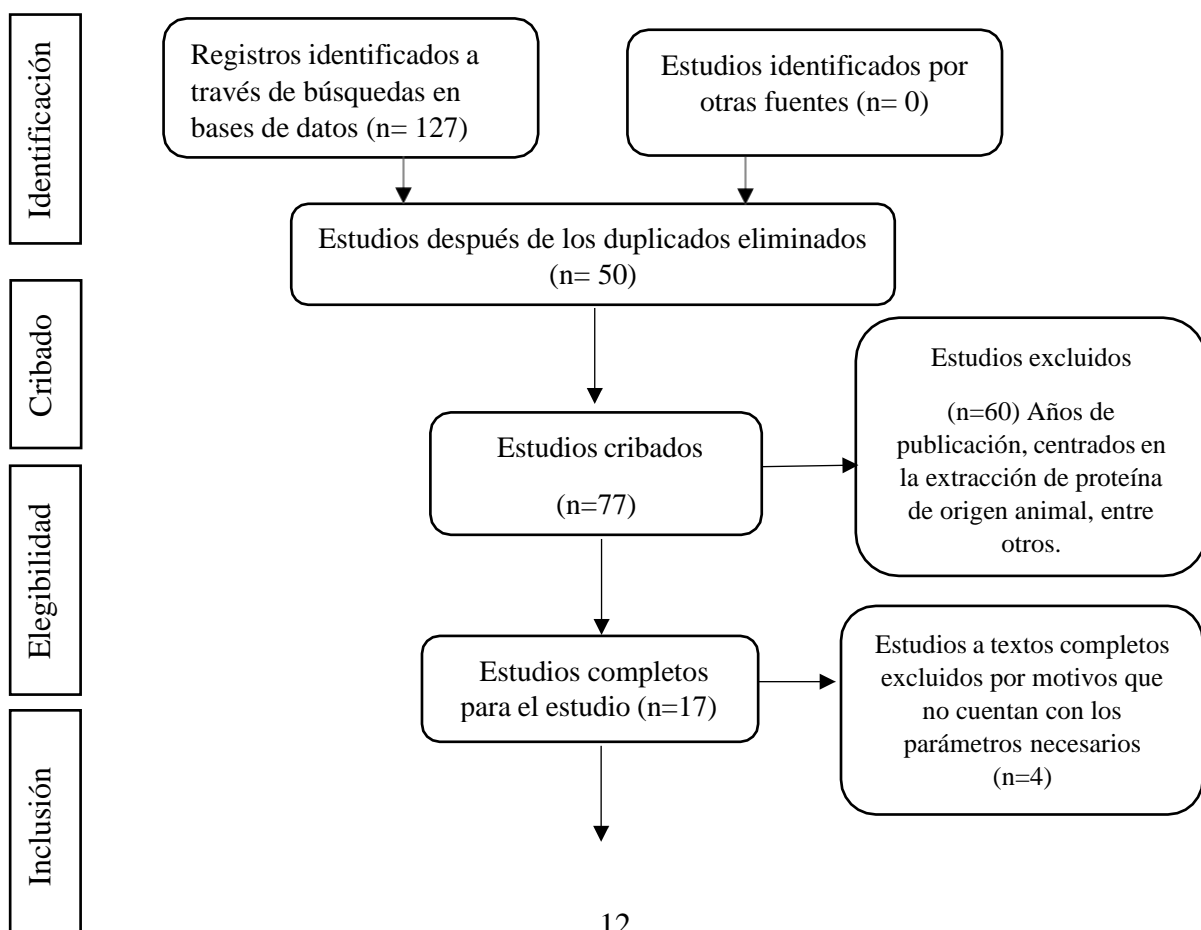
En esta investigación se revisó información de 13 artículos científicos encontrados en la base de datos, las cuales contribuyeron a la fundamentación teórica.

### 3.5. Técnica de recolección de datos

En la figura 1 se detalla el proceso de selección de los artículos, mediante un diagrama de flujo:

**Figura 1:**

*Diagrama de flujo. Proceso de selección de estudios*



Estudios finales incluidos  
para su análisis (n=13)

*Nota:* Diagrama de flujo según el método PRISMA para la selección de artículos.

Elaborado por: Taimal. G. (2021)

## CAPÍTULO IV.

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Resultados

Después de la búsqueda bibliográfica se identificaron 127 artículos encontrados en la base de datos de Google Académico, Scopus y Hindawi, de los cuales 50 artículos fueron eliminados por encontrarse duplicados, 60 artículos fueron excluidos por no cumplir con los años de publicación y no extraer proteína de origen vegetal. Al realizar una lectura de los 17 artículos se descartan 4 artículos debidos que no cuentan con los parámetros necesarios.

Como resultado final se obtuvo 13 artículos relevantes que se citan en la tabla 3 con algunas características como son: Tema, autores, la base de datos en las que fueron obtenidos, idioma, año, tipo de vegetal y método utilizado para extracción proteína y cuantificación. En el Anexo 1 se transcriben cada uno de los métodos.

Del análisis se observa, 7 artículos que utilizan el método alcalino, 2 artículos de métodos ultrasonidos, 4 artículos manejo diferentes métodos para la extracción de proteína vegetal. De la base de datos, el 53 % pertenecen a la revista Scopus en idioma inglés, el 40% Google Académico en idioma español y 7% a la revista Hindawi en idioma inglés. Además el tipo de vegetales utilizados en las investigaciones fueron: frejol, maíz, maní, arroz, quinua, chocho, soja, garbanzo, girasol, trigo, judías, lentejas, sangri y *pentacalia nitida*

**Tabla 4***Métodos utilizados para la extracción de proteína vegetal*

Ítem	Tema	Autores	Base de datos	Idioma	Año	Tipo de vegetal	Método utilizado para extracción proteína y cuantificación de la proteína
1	Efecto del pH de extracción y caracterización funcional de proteínas del frijol	(Zevallos et al., 2016)	Google Académico	Español	2016	Frijol	Alcalino
2	Estudio sobre la extracción de proteínas de maní y cuerpos oleosos por agua.	(Chen et al., 2019)	Hindawi	Inglés	2019	Maní	Extracción enzimática
3	Optimización del protocolo para la extracción y la cuantificación de proteínas totales en semillas de maíz.	(Yaned et al., 2017)	Google Académico	Español	2017	Maíz	Tris-base
4	Efecto del pretratamiento de ultrasonido o de alta potencia sobre la extracción y algunas propiedades fisicoquímicas de las proteínas de garbanzo, frijol y soja.	(Lamsal et al., 2019)	Scopus	Inglés	2019	Garbanzo, frejol y soja	Ultrasonido
5	Optimización de la extracción de proteína de semillas de <i>Prosopis cineraria</i> utilizando metodología de superficie de respuestas.	(Gokhale et al., 2019)	Scopus	Inglés	2019	Sangri	Alcalino
6	Extracción de Proteínas a partir de hojas y semillas de <i>Pentacalia nítida</i> .	(López et al., 2017)	Google Académico	Español	2017	<i>Pentacalia nítida</i>	Fenol- Tris
7	Estudio de la fracción proteica en la harina de leguminosa procesada.	(Sarmiento, 2017)	Google Académico	Español	2017	Judía, lenteja	Alcalino

**Tabla 3** (continuación)

8	Sonicación de alta potencia de proteínas de soja.	(Lamsal et al., 2020)	Scopus	Inglés	2020	Soja	Sonicación
9	Efecto del pH en el aislamiento de proteína de quinua.	(Ruiz et al., 2016)	Scopus	Inglés	2016	Quinua	Alcalino
10	Extractabilidad osborne y separación cromatográfica de proteínas de quinua	(Vondel et al., 2020)	Scopus	Inglés	2020	Quinua	Alcalino
11	Obtención y caracterización de un hidrolizado proteico de quinua.	(Quelal et al., 2019)	Google Académico	Español	2019	Quinua	Alcalino
12	Obtención de hidrolizado enzimático de proteínas de chocho a partir de harina integral.	(Acuña et al., 2018)	Google Académico	Español	2018	Chocho	Alcalino
13	Efectos y mecanismo del remojo en ácido diluido con pretratamiento de ultrasonido sobre la extracción de proteína del salvado de arroz.	(Zhang et al., 2019)	Scopus	Inglés	2019	Arroz	Ultrasonido

*Notas:* Datos tomados de los artículos seleccionados Elaborado por: Taimal G., 2021

En la tabla 4 se resumen el rendimiento en la extracción de la proteína de cada investigación

**Tabla 5**

*Resumen de los resultados de cada artículo*

Autor(es)	Tipo de investigación	Cantidad de muestra	Rendimiento
(Zevallos et al., 2016)	Artículo	100 g	Al aumentar el pH durante la extracción se incrementó el porcentaje de rendimiento de las proteínas del frejol, llegando hasta 79.4% y con 43.6% de proteína al pH 10.
(Chen et al., 2019)	Artículo	20 g	El rendimiento de proteína de maní, alcanzando 78,60% y 48,44% respectivamente, en las condiciones óptimas de hidrólisis enzimática a una temperatura de 52 °C.
(Yaned et al., 2017)	Artículo	5 g	Finalmente, el Tris-base fue el buffer más eficiente para la extracción de proteínas de maíz, con un porcentaje que oscila entre el 45% - 50% con un pH entre 7 y 9,2. Con este procedimiento se obtuvieron, de manera rápida y sencilla, cantidades cuantificables.
(Lamsal et al., 2019)	Artículo	100 g	El rendimiento fue mayor para las hojuelas de soja cuando se expuso a ultrasonido de alta potencia, aumento significativamente en un 90% y 68.5%. El rendimiento de la extracción proteína del frejol aumento significativamente en un 16.39% cuando se aplicó un mayor ultrasonido.
(Gokhale et al., 2019)	Artículo	100 g	Mayor rendimiento proteico se obtuvo a una temperatura superior hasta 60°C a un pH 8 un tiempo de extracción de 180 minutos , la proteína soluble en el extracto fue de 233,4 g.
(López et al., 2017)	Tesis	35g	Se determina que el buffer fosfato extrae la mayor cantidad de proteína permitiendo obtener una concentración de 657,3µg/ml, respecto a la obtención con Tris-Cl de 134µg/ml.

**Tabla 4** (continuación)

(Sarmiento, 2017)	Artículo	2,5g	El proceso de cocción provoca una reducción en la concentración de proteínas en ambas leguminosas, en judías la reducción es drástica 76% y en lenteja la reducción en la concentración de proteína es discreta 23%. Se considera que se obtuvieron cerca de 3ml de cada una de las muestras.
(Lamsal et al, 2020)	Artículo	11g	Se informa que la aplicación de la sonicación de alta potencia aumenta el rendimiento de la extracción de proteínas en un 34% a una densidad de potencia de 2,5 W/ cm <sup>3</sup> durante 2 min.
(Ruiz et al., 2016)	Artículo	40g	El rendimiento de la proteína es de 47% a un pH de extracción de 8 y NaCl 0,5 N
(Vondel et al., 2020)	Artículo	10g	Se obtuvo un alto rendimiento y poca desnaturalización de proteínas de quinua, obtenida por doble extracción (10 min) con 0,4 mol/l de sodio cloruro con 14-16% de la proteína total.
(Quelal et al., 2019)	Artículo	100g	Con la aplicación de ácido cítrico se obtuvo un menor rendimiento en referencia al ácido clorhídrico y el contenido de proteína presentó variación en relación con el número de lavados realizados. Rendimiento sin lavado y con ácido cítrico 70,76± 0.65 %, rendimiento dos lavados y con ácido clorhídrico 72,81± 0.78 %.
(Acuña et al., 2018)	Artículo	100 g	Se determinó que la muestra de relación harina-agua destilada 1:11 y ajuste a pH 10.5 con NaOH, registro el 72,2% de recuperación en proteína y rendimiento en peso del 42,6%.
(Zhang et al., 2019)	Artículo	26g	El rendimiento de extracción de proteína se incrementó de 53,1% a 72,8% cuando el salvado de arroz desgrasado, mediante ultrasonidos combinados con inmersión en ácido sulfúrico al 0,9% a 90°C.

*Nota:* Datos tomados de los artículos seleccionados Elaborado por: *Taimal G., 2021*



#### 4.1.1. Matriz comparativa de los métodos de extracción de proteína vegetal.

**Tabla 6**

*Matriz Comparativa*

Método	Desventajas	Ventajas
Alcalino	Al momento de aplicar este método surgen diversas variantes como el pH, la temperatura, la velocidad del equipo, ácidos y bases empleados para cada extracción.	Es un método fácil de utilizar Es una forma rápida de separar partículas sólidas o líquidas. Se obtiene mayor cantidad de proteína.
Extracción enzimática	Es un método muy poco utilizado debido a que los costos de las enzimas a utilizar son muy caras o difíciles de conseguir.	Elimina el consumo de solventes lo cual puede resultar menor costo de inversión. Preparación sencilla No existe contaminación bacteriana.
Tris	No es un método tan eficiente debido que se necesita de otros métodos para tener mayor recuperación de proteína	El tiempo de extracción es corto, el costo moderado, pasos de extracción simple, menor pérdida de proteína y resultados experimentales reproducibles.
Ultrasonido	Es un método puramente mecánico. Los equipos para la realización de este método son muy caros dependiendo del rendimiento que se quiere obtener en la extracción.	Es un método rápido, limpio y amigable con el medio ambiente. Económicamente rentable en el ámbito alimenticio.
Sonicación	Una desventaja importante es la dificultad para mantener la temperatura de la mezcla debido a que se calienta durante el funcionamiento del equipo.	Logra una extracción completa y por lo tanto se obtienen rendimientos de extracción superiores en un tiempo de extracción muy corto

Elaborado por: *Taimal G., 2021*

La Tabla 6 se indican los precios estimados de los equipos que se utilizan para la extracción de proteína vegetal, los cuales se podrían adquirir para el laboratorio de Ingeniería Agroindustrial.

### **Tabla 7**

#### *Precios de los equipos*

Equipo	Precio
Centrifuga	3.824,00
Ultrasonido	5.000.00
Sonicación	6.700.00
Liofilizadora	9.300,00

Elaborado por: *Taimal G., 2021*

## **4.2. Discusiones**

De acuerdo con la investigación realizada se demuestra que para obtener proteína a partir de vegetales el primer paso es preparar la muestra para la extracción y se demuestra que puede realizarse la extracción en muestras secas o no secas, para lo cual estudiaron una gran variación en las condiciones del proceso que se pueden explorar cambiando un factor a la vez y manteniendo otros fijos.

Se encontró que Zevallos et al. (2016), Gokhale et al. (2019), Sarmento. (2017), Vondel et al. (2020), Quelal et al. (2019) y Acuña et al.(2018) trabajaron con el método alcalino con ácidos y bases que ayudan ajustar el pH, con centrifugación de 4700,5000, 8000, 10.000, 14.000 rpm por 10,20,30 o 60 minutos a una temperatura 4°C – 60°C.

Yaned et al. (2017) y López et al.(2017) extraen la proteína aplicando el método de Tris utilizando una solución buffer 0,1 N, se colocaron en un agitador orbital durante 10-20 minutos a una temperatura de 4-10°C.

Zhang et al.(2019) y Lamsal et al.( 2019) aplicaron métodos de ultrasonido con una densidad de potencia 2,5 W/cm<sup>3</sup> y 4,5 W/cm<sup>3</sup> durante 5-10 minutos a una temperatura de 15-30°C. Lamsal et al. (2020) utiliza el método sonicación con una densidad de potencia de 2,5 y 5 W/cm<sup>3</sup> durante 30 minutos a 60°C y un tampón de fosfato para ajustar el pH a 7 y 8,5. Chen et al. (2019) realizó la extracción de enzimas utilizando una vibradora digital a una temperatura de 50 °C por dos horas y una centrifugación de 5000 rpm durante 20 min.

En el caso de Zevallos et al.(2016) utilizó el método alcalino para la extracción de proteína vegetal en muestras de frejol, el autor ensayo con diferentes pH obteniendo 62,63% de proteína a pH 8, 68,28% a pH 9 y 79,39% a un pH 10. El estudio señala que el pH de extracción tiene gran influencia en el contenido final y el rendimiento en proteínas, así como la relación soluto/solvente, la colocación de centrifugación de las etapas de separación y la solubilidad de las proteínas.

Chen et al. (2019) realizó la extracción de proteína utilizando el método enzimático en muestra de maní, la temperatura es un factor clave que afecta en la actividad enzimática y en el rendimiento de la proteína, consiguió un máximo de 79,91% a los 80 min a una temperatura de 55°C.

Yaned et al. (2017) manejó el método de Tris para la extracción de proteína en muestra de maíz, con Tris- Base y Tris- HCl obtuvo mayor cantidad de proteína, mientras que el TCA no separó la cantidad suficiente para ser detectada.

Lamsal et al.(2019) realizó la extracción de proteína con el método de ultrasonido utilizando como muestras el garbanzo, frejol y soja, él demuestra que al utilizar este método se comporta de diferente manera en las tres muestras, así en las hojuelas de soja aumentan rendimiento cuando hay una aplicación mayor de densidad de potencia en el ultrasonido en comparación a las hojuelas que no fueron sometidas a este tratamiento, sin embargo cuando se utiliza la harina

de frejol disminuye el rendimiento al aumentar la densidad de potencia, por otro lado en la extracción de los garbanzos después de utilizar el ultrasonido disminuye completamente el rendimiento de extracción y explican que se debe a que contiene mayor cantidad de grasa es decir 7,03% y esa cantidad de grasa que se encuentra unido con la proteína hace que no se pueda aislar con buenos rendimientos dicha proteína.

Gokhale et al.(2019) utilizó el método alcalino para la extracción de proteína en muestra de semillas de sangri, consiguiendo como resultado que el contenido de proteína soluble fue significativamente afectado por tres factores diferentes como el pH, temperatura y el tiempo de extracción. Dentro del dominio experimental de pH 8-12 a 30- 60°C por 60-180 minutos, el contenido de proteína soluble en la masa extraída varió entre 147 y 314 g. La máxima extracción de proteína se obtuvo a un pH 10 a 60°C por 120 minutos.

López et al.(2017) manejó varios métodos para la extracción de proteína en muestras *pentacalia nítida* en la que demostró que el método Fenol- Tris no recupera una concentración alta de la proteína, en comparación con los métodos TCA- Acetona y sulfato que entre ellos son similares.

Sarmento. (2017) realizó la extracción de proteínas en judías y lentejas utilizando el método alcalino en tres formas diferentes; crudas, cocidas y germinadas. El proceso de cocción provoca una reducción en la concentración de proteínas en ambas leguminosas. En judías la reducción es drástica (76%), debido a que la muestra presentó problemas en la extracción de almidón. En la lenteja la reducción en la concentración de proteínas es más discreta (23%). Sin embargo, la germinación provoca diferentes cambios según la muestra estudiada, en judía se observó un ligero incremento (12%), a diferencia del comportamiento observado en la lenteja donde la germinación causa una reducción considerable (31%). El método empleado para la preparación

de la muestra (libre de almidón) afecta la concentración proteica de judía y lenteja crudas y procesadas.

Lamsal et al. (2020) utiliza el método de sonicación, él indica que es una de las tecnologías ampliamente investigadas que se valora en la investigación agroalimentaria, principalmente, por su alteración de las células matrices a intensidades más altas y los efectos consiguientes en la extracción de componentes celulares. Llegó a la conclusión que la aplicación de sonicación de alta potencia aumenta el rendimiento de la soja en la extracción de proteína en un 34% a una densidad de potencia de 2,5 W/ ml durante 2 min, esto se debió a que las proteínas de las hojuelas de soja no fueron puras.

Ruiz et al. (2016) utilizó el método alcalino para la extracción de proteína en la quinua, consiguiendo que los rendimientos de las proteínas significativamente aumentan cuando el pH de extracción es alto, pero la pureza de la proteína disminuye por lo cual el rendimiento de este estudio es de 47% a un pH de extracción 8 y con NaCl 0,5 N.

Vondel et al.(2020) realizó la extracción de proteínas con el método alcalino en la quinua, las proteínas de la quinua fueron extraído con el uso de diferentes medios de extracción que contienen sal. El rendimiento de proteína después de una extracción única a 150 rpm con agua y harina integral fue aproximadamente del 42% independientemente de los tiempos de centrifugación (10, 20, 30 o 60 min). Una segunda extracción del sedimento con agua dio como resultado un rendimiento de proteína extra de aproximadamente un 10%. La extracción con solución salina dos veces por 10 min después de la extracción dio un rendimiento de proteína aproximadamente del 13%. El mayor rendimiento con la menor desnaturalización de proteínas fue obtenido por doble extracción de quinua integral con agua seguida de doble extracción de 10 min con 0,4 mol/ l de cloruro de sodio.

Quelal et al. (2019) extrae proteína de la quinua aplicando el método alcalino y precipitación isoelectrica, en su investigación demuestra que al utilizar el ácido cítrico obtuvo 70,76% de rendimiento menor que al utilizar ácido clorhídrico (72,81%), esta variación se debe a que el ácido clorhídrico posee una importante fuerza iónica que podría lograr una mejor estructuración de las moléculas.

Acuña et al. (2018) aplicó el método alcalino para la extracción de proteína en el chocho, el autor demuestra que al realizar una segunda extracción en el material insoluble que se encuentra después de la centrifugación, consigue un mayor rendimiento en peso y recuperación de proteína. El rendimiento de proteína que se alcanzó en este estudio es de 42,6 % de peso y una recuperación de proteína de 72,22%.

Zhang et al. (2019) extrajo la proteína utilizando el método de ultrasonido en el arroz, obtuvo como resultado que cuando más alta es la potencia ultrasónica mayor es el rendimiento de la proteína similar a lo que obtuvo Lamsal et al.(2019). Zhang explica que se debe al efecto de cavitación, que podrían facilitar el daño de la pared celular y favorecer el acceso del solvente y la difusión de la proteína.

Con lo expuesto anteriormente se puede decir que para la extracción de la proteína en muestras de legumbres y cereales los factores críticos que se deben tomar en cuenta son: El pH, la temperatura y el tiempo de extracción, la densidad de potencia en ultrasonido, las extracciones sucesivas, el tiempo en la centrifugación, el tipo de ácidos utilizados, concentración enzimática, temperatura y tiempo de hidrólisis enzimática. Así mismo que el método de extracción más utilizado por las investigaciones examinadas es el alcalino y el que se recomienda sea utilizado en el laboratorio de Ingeniería Agroindustrial, el otro método alternativo es el ultrasonido ambos métodos se detallan a continuación:

## 1) Método alcalino

### Fundamento del método

La extracción alcalina es el método más común. Se emplea convencionalmente para mejorar la capacidad de extracción de proteínas, una forma más respetuosa con el medio ambiente que el uso de disolventes orgánicos. Este procedimiento se basa en la solubilización de las proteínas en un medio alcalino; la solución se filtra y se centrifuga para eliminar el líquido. (Mora, 2016)

### Materiales y equipos

**Tabla 8**

*Materiales y Equipos método alcalino*

<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>
Granos o semillas	Termómetro
Agua destilada	Centrifuga
Vaso de precipitación 1000 ml	Refrigeradora
NaOH 1N	Estufa
HCL 1N	Peachímetro

Nota: Datos tomados de Zevallos et al.(2016) Elaborado por: *Taimal G., 2021*

### Preparación de muestra

La muestra debe estar limpia para separar la materia extraña y granos muy pequeños o rotos, luego se pesa y se remojan en agua destilada en una relación de 1:3 (p/v) durante 8 horas a 20 °C. A continuación, se elimina manualmente las cáscaras y los granos húmedos se coloca en una licuadora y se adiciona 250 ml de agua destilada, se trituran a velocidad media por 3 minutos.

### Procedimiento de análisis

Para la extracción de la proteína se sigue el procedimiento indicado a continuación

1. La suspensión se coloca en un vaso de precipitación 1000 ml, se adiciona 250 ml de agua destilada para tener una relación 1:10 (p/v) de grano/ agua.

2. La suspensión se ajusta a pH 10 con NaOH 1N y se agita por 60 minutos a una temperatura de 20° C.
3. Se filtra la suspensión y la parte líquida se ajusta a pH 4,5 con HCl 1N, luego se coloca en refrigeración a 8° C por una hora.
4. Se centrifuga la suspensión a 5000 rpm por 10 minutos, se elimina el líquido y se recolecta los sólidos (proteína).
5. Secar el aislado de proteína en la estufa a una temperatura de  $32 \pm 3^\circ \text{C}$  durante 14 horas.
6. Se almacenan en envases de polietileno y a una temperatura de 20° C. (Zevallos et al., 2016)

## 2) Método ultrasonido

### Fundamento del método

El ultrasonido es considerado un método de extracción rápido y rentable económicamente en el ámbito alimentario. Los ultrasonidos son un conjunto de ondas mecánicas cuya frecuencia es superior, siendo las más habituales las de poca frecuencia y alta potencia ya que se requiere que la muestra no se deteriore o modifique demasiado. Carranza et al.(2016)

### Materiales y equipos

#### Tabla 9

*Materiales y Equipos del método ultrasonido*

<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>
Harina de granos o semillas desgrasada	Agitador
Agua destilada	Centrifuga
Vaso de precipitación	Termómetro
	Peachímetro
	Ultrasonido
	Liofilizadora

Nota: Datos tomados de Zhang et al. (2019) Elaborado por: *Taimal G., 2021*



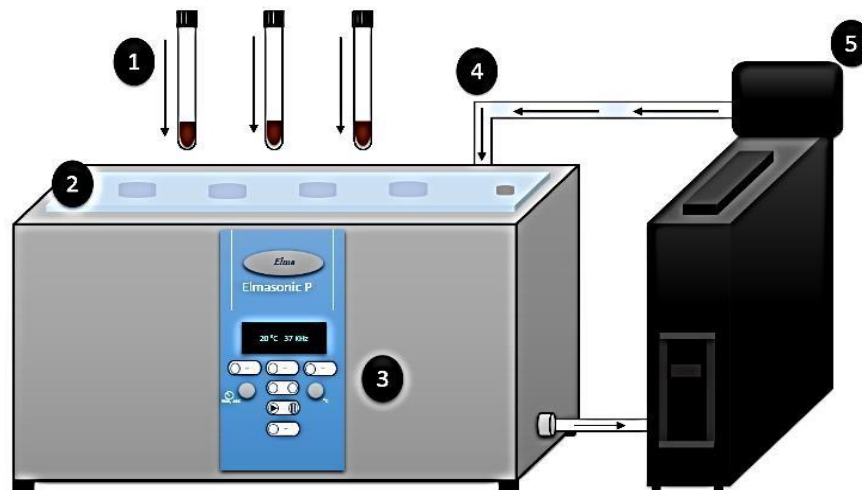
## Preparación de muestra

La muestra es remojada en agua durante 12 horas y se descascaran por completo seguido de secado en horno a 50 ° C durante 24 horas para luego ser molidos y tamizados en mallas de 25,35,60,120,170 y 200  $\mu\text{m}$ .

## Procedimiento de análisis

1. La harina se dispersa en agua destilada con una relación de 1:10
2. Luego se trata a diferentes niveles de potencia de 100 W, 200 W, 300 W, 400 W, 500 W, 600 W a diferentes tiempos de 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min y 60 min.
3. Durante el ultrasonido, las muestras se sumergen en un baño de agua helada.
4. Se elimina el agua de la muestra para luego enviar la parte sólida se liofiliza. (Zhang et al., 2019)

**Figura 2:** Equipo ultrasonido: 1. Muestra. 2. Transductores. 3. Procesador de ultrasonido. 4. Sistema recirculado de agua. 5. Sistema de enfriamiento.



*Nota:* Imagen tomada de Vega R et al., (2016)

## **CAPÍTULO V.**

### **5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **5.1. Conclusiones**

- Mediante la revisión de 13 artículos científicos se llegó a la conclusión de utilizan diversos métodos de extracción de proteína vegetal como: el método alcalino, extracción enzimática, ultrasonido, sonicación y fenol-tris, que son aplicados en diferentes muestras vegetales. En cada una de las investigaciones se encontró el procedimiento para la preparación de la muestra, los equipos, la metodología utilizada y los rendimientos obtenidos.
- Al analizar ventajas y desventajas de cada uno de los métodos se propone dos protocolos de extracción de proteínas, que son la extracción alcalina y el método de ultrasonido por ser métodos fáciles y con mayor rendimiento, además el método ultrasonido es amigable con el medio ambiente porque no utiliza reactivos.
- Se propone los dos métodos mencionados en punto anterior para ser utilizados en los laboratorios de Ingeniería Agroindustrial tanto por estudiantes como por docentes para diversas investigaciones.

#### **5.2. Recomendaciones**

- Se recomienda a las autoridades la adquisición de los equipos necesarios para aplicar los procedimientos sugeridos en esta investigación en vista que es importante tanto para los estudiantes como docentes que realizan investigaciones de cómo crear productos ricos en proteína vegetal debido a que cada vez hay más demanda de alimentos ecológicos y saludables.

- Realizar un estudio de pre factibilidad de la implementación de una planta con productos de extracción de proteína vegetal, que incentiven a la innovación y a mejorar la calidad nutricional de los alimentos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carranza, J., Ruiz, H., Martínez, N., & Corona, E. (4 de 06 de 2016). Extracción asistida por ultrasonido de proteína de semillas de chia. *Scielo*, 7. Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-31952016000400403#:~:text=Los%20par%C3%A1metros%20mejores%20de%20extracci%C3%B3n,g%2D%201%20de%20ch%C3%ADa](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952016000400403#:~:text=Los%20par%C3%A1metros%20mejores%20de%20extracci%C3%B3n,g%2D%201%20de%20ch%C3%ADa)).
- Alvares, L., Guerrero, C., Corzo, L., & Arcos, D. (2013). Estructuras y propiedades funcionales de proteínas de los vegetales. *Investigador Nacional Nivel I*, 10. doi:<https://www.revistauniversitaria.uady.mx/pdf/227/ru2275.pdf>
- Chen, F., Liu, C., Hao, L., & Yang, C. (2020). Study on Extraction of Peanut Protein and Oil Bodies by Aqueous Enzymatic Extraction and Characterization of Protein. *Hindawi*, 1-10. doi:<https://doi.org/10.1155/2020/5148967>
- FAO. (2012). *Cereales con alto contenido de proteína*. Obtenido de <http://www.fao.org/3/w0073s/w0073s0u.htm>
- FAO. (2016). *Nutrientes en los leguminosas*. Obtenido de <http://www.fao.org/3/a-i5528s.pdf>
- Gokhale, J. S., Garg, D., & Chakraborty, S. (2019). Optimizing the extraction of protein from Prosopis cineraria seeds using response surface methodology and characterization of seed protein concentrate. *LWT - Food Science and Technology*, 1-9. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108630>
- Lafarga, A. (2019). La modificación funcional de las proteínas de las leguminosas. *Scopus*, 35.
- Lamsal, B. P., Byanju, B., Rahman, M. M., & Hojilla-Evangelista, M. P. (2019). Effect of high-power sonication pretreatment on extraction and some physicochemical properties of proteins from chickpea, kidney bean, and soybean. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1-8.
- Lamsal, B. P., Rahman, M. M., Byanju, B., & Grewell, D. (2020). High-power sonication of soy proteins: Hydroxyl radicals and their effects on protein structure. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 1-10. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105019>
- Liquiang Katina, C. E. (2018). Proteína de Cereales. *Tendencias en ciencia y tecnología de alimentos*, 12. Obtenido de <https://www.redalyc.org//4419/441955208011/html/index.html>
- López, D., Quimbayo, L., Schuler, I., & Palacios, J. (2017). Extracción de proteínas a partir de hojas y semillas de Pentacalia nítida y evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto proteico acuoso. *Microbiología Industrial Bogotá*, 1-21. Obtenido de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/11802/LopezQuimbayoLinaDaniela2017>.
- McCarthy. (2017). Optimización del protocolo para la extracción y la cuantificación de proteínas totales en semillas germinadas de maíz. *Unimilitar*, 5.

- Mora, M. d. (15 de 11 de 2016). *Centro de Investigación Biológica del Noreste California*. Obtenido de [https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1313/1/mora\\_m.pdf](https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1313/1/mora_m.pdf)
- Oswaldo, A., & Jimena, C. (2018). Obtención de hidrolizado enzimático de proteína de chocho (*lupinus mutabilis*) a partir de harina integral. *Alimentos y Biotecnología*, 70-76. Obtenido de [https://revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista\\_politecnica2/article/view/274](https://revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista_politecnica2/article/view/274)
- Quelal, M., Nazate, K., Villacrés, E., & Cuarán, J. (2019). Obtención y caracterización de un hidrolizado. *Enfoque UTE*, 79-87. doi:[https://redib.org/Record/oai\\_articulo2069548-obtenci%C3%B3n-y-caracterizaci%C3%B3n-de-un-hidrolizado-proteico-de-quinua-chenopodium-quinua-willd](https://redib.org/Record/oai_articulo2069548-obtenci%C3%B3n-y-caracterizaci%C3%B3n-de-un-hidrolizado-proteico-de-quinua-chenopodium-quinua-willd)
- Ruiz, G. A., Xiao, W., Boekel, M. v., Minor, M., & Stieger, M. (2016). Effect of extraction pH on heat-induced aggregation, gelation and microstructure of protein isolate from quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*). *FOOD CHEMISTRY*, 1-19. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.052>
- Sanz, I. (13 de mayo de 2017). *Vive sano* . Obtenido de [http://www.institutotomas Pascualsanz.com/descargas/publicaciones/vivesano/vivesano\\_13mayo17.pdf?pdf=vivesano-130510](http://www.institutotomas Pascualsanz.com/descargas/publicaciones/vivesano/vivesano_13mayo17.pdf?pdf=vivesano-130510)
- Sarmiento, T. R. (2017). Estudio de la fracción proteica en la harina de leguminosa procesada. *Buen alimento mejor pensamiento*, 158-170. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/?codigo=39147>
- Urrutia, W. (20 de 12 de 2016). *UNAMBA*. Obtenido de [http://unamba.edu.pe/bitstream/handle/UNAMBA/311/T\\_0140.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://unamba.edu.pe/bitstream/handle/UNAMBA/311/T_0140.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Vega, K. (2017). *Escuela Politecnica Nacional*. Obtenido de <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/18867/1/CD-8258.pdf>
- Verdini, R. (4 de agosto de 2018). *Fbioyf*. Obtenido de [https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/126858/mod\\_resource/content/4/QA-2018-VEGETALES.pdf](https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/126858/mod_resource/content/4/QA-2018-VEGETALES.pdf)
- Vinson, J. (22 de enero de 2018). *Instituto Nacional de Investigaciones Vegetables*. Obtenido de <http://www.indiv.edu.ec/personal/tcarmona/files/2018.pdf>
- Vondel, J. V., Lambrecht, M. A., & Delcour, J. A. (2020). Osborne extractability and chromatographic separation of protein from quinoa. *LWT - Food Science and Technology*, 1-7. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109321>
- Yaned, C. N., Buriticá, L. M., Rivera, J. D., & Penados, J. P. (2017). Optimización del protocolo para la extracción y la cuantificación de proteínas totales en semillas germinadas de maíz. *Unimilitar*, 1-4. Obtenido de <http://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb>

- Zevallos, A., Arce, A. G., & Hiuguay, C. P. (2016). Efecto del pH de extracción y caracterización funcional de proteínas de ñuña. *Pueblo Continente*, 81-85. Obtenido de <http://www.journal.upao.edu.pe/PuebloContinente/article/view/265/233>
- Zhang, Y., Wang, B., Zhang, W., Xu, W., & Hu, Z. (2019). Effects and mechanism of dilute acid soaking with ultrasound pretreatment on rice bran protein extraction. *Journal of Cereal Science*, 318-322. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.04.018>

## ANEXOS

### Anexo 1: Procedimientos de los métodos

Método	Materiales	Equipos	Preparación de muestra	Procedimiento de análisis
<b>Alcalino</b>	Granos o semillas Agua destilada Vaso de precipitación 1000 ml NaOH 1N HCL 1N	Termómetro Centrifuga Refrigeradora Estufa Peachimetro Molino	A los granos se les separa de la materia extraña y granos muy pequeños o rotos, luego se pesan la unidad experimental y se remojan en agua destilada en una relación de 1:3 (p/v) durante 8 horas a 20 °C. A continuación se elimina manualmente las cáscaras y granos húmedos sin cáscara se coloca en una licuadora y se adiciona 250 ml de agua destilada, se trituraron a velocidad media por 3 minutos.	La suspensión se coloca en un vaso de vidrio de 1000 ml, se adiciono 250 ml de agua destilada para tener una relación 1:10 (p/v) de grano /agua. La suspensión se ajusta a un pH 10 con NaOH 1N y se agita por 60 minutos a 20 °C. A continuación, se filtra la suspensión y la parte líquida se ajusta a un pH 4.5 con HCl 1N, luego se coloca en refrigeración a 8 °C por una hora. Después se centrifuga la suspensión a 500 rpm por 10 minutos, se elimina el líquido y se recolecta los sólidos (proteína). Se procede a secar el aislado de proteína en una estufa a una temperatura de $32 \pm 3$ °C durante 14 horas. Las proteínas desecadas se guardaron en envase de polietileno a una temperatura 20 °C.
<b>Alcalino y precipitación isoeléctrica</b>	Granos Agua destilada Empaques NaOH 1N Vasos de precipitación Ácido cítrico Ácido clorhídrico	Estufa Molino Tamiz Centrifuga Liofilizadora Termómetro Peachimetro	El grano fue sometido a limpieza y clasificación luego fue lavado con agua destilada y posteriormente secado en una estufa a 75°C por 8 horas. Los granos se molieron luego se tamiza a 250µm. Esta fracción fue desengrasada con hexano por 24 horas, después de retirar el solvente, la harina fue secada por 2 horas a 60° C. Posteriormente las muestras fueron empacadas en fundas de polietileno y almacenadas en un lugar seco.	Se prepara una suspensión de harina: agua destilada en una relación 1:10 (p/v), el pH fue regulado con una solución 1N de NaOH hasta llegar a pH 9. Esta suspensión se agitó por 1 hora con un agitador mecánico, las muestras se centrifugan a 10000 rpm durante 15 minutos. Con los sobrenadantes obtenidos a partir de la primera y segunda extracción, el pH fue regulado con dos tipos de ácido (cítrico y clorhídrico) hasta llegar a 4,5. Las muestras se centrifugan a 10000 rpm durante 15 minutos; se descarta el sobrenadante. Con el precipitado se realizó lavados con agua destilada. Los precipitados fueron liofilizados a -30°C y presión de -0.9 bares.
<b>Ultrasonido</b>	Granos y semillas Agua destilada Vaso de precipitación	Ultrasónico Molino Tamiz Termómetro	Los granos y semillas son remojados en agua durante 12 horas y se descascaran por completo seguido de secado en hornos a 50 °C durante 24 horas para luego ser molidos y tamizados en mallas de 25,35,60,120,170 y 200 µm.	La harina se dispersa en agua destilada con una relación de 1:10. Luego se trata a diferentes niveles de potencia de 100 W, 200 W, 300 W, 400 W, 500 W, 600 W a diferentes tiempos de 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min y 60 min. Durante el ultrasónico, las muestras se sumergen en un baño de agua helada. Se elimina el agua de la muestra para luego enviar la parte sólida se liofiliza.

**Anexo 1** (continuación)

<b>Fenol- Tris</b>	Gramos o semillas Nitrógeno liquido Tubo de ensayo TCA Tris-HCl Tris-Base	Agitador orbital Centrifuga	El material vegetal se macero en nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino.	5 g del polvo de la semilla se depositaron en un tubo de ensayo con 3ml del solvente de extracción TCA, Tris- HCl o Tris-Base y se coloca en un agitador orbital durante una hora. Al cabo de este tiempo el material se decantó obteniéndose un sobrenadante y un pellet; el primero se retira y se conserva, mientras que el segundo se adicionó una porción del respectivo solvente. Los sobrenadantes obtenidos se unieron y se centrifugaron a 7000 rpm durante 7 minutos.
<b>Sonicación</b>	Aislado proteico Vasos de precipitación Agua destilada	Agitador Centrifuga Termómetro Estufa	Se mezcló el aislado proteico con el disolvente a 1:10 y se agito durante 2horas seguido de centrifugación a 3000 rpm durante 10 min.	La muestra se sonifica en tubos de centrifuga envuelto completamente en papel aluminio a una densidad de potencia de 2,5 W/ml por 2 minutos y a una temperatura debajo de 55°C
<b>Enzimático</b>	Semillas o granos Agua destilada Enzimas Tubos de centrifuga	Molino Vibrador orbital Termómetro Liofilizadora	Las semillas sin piel fueron molidas a alta velocidad.	Veinte gramos de polvo fueron dispersados en agua destilada con relación 1: 5 (peso / vol). La enzimolisis de la mezcla se realizó en un vibrador digital de temperatura constante para baño de agua de 2 horas 50 ° C.A continuación, la enzima se desactivó mediante la colocación de la muestras en un baño de agua hirviendo durante 5 min. La solución enfriada se transfirió a un tubo de centrifuga y fue centrifugado a 5000 rpm durante 20 min, para luego ser liofilizado.

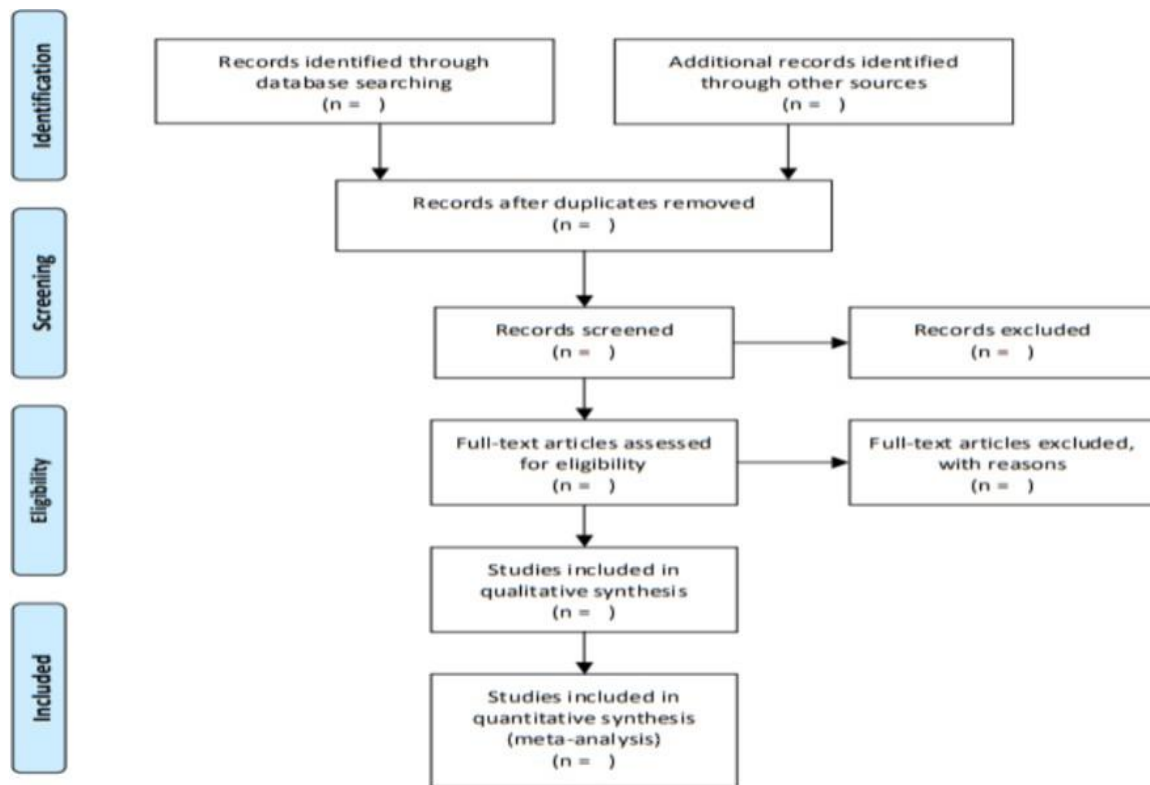
*Nota:* Datos tomados de los artículos seleccionados Elaborado por: *Taimal G., 2021*



## Anexo 2: Lista de verificación PRISMA

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
<b>TITLE</b>			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	
<b>ABSTRACT</b>			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	
<b>INTRODUCTION</b>			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	
<b>METHODS</b>			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., $I^2$ ) for each meta-analysis.	
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk or bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	
<b>RESULTS</b>			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	
<b>DISCUSSION</b>			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	
<b>FUNDING</b>			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	

Anexo 3: Diagrama de Flujo PRISMA



Anexo 4: Centrifuga



Anexo 5: Ultrasonido



**Anexo 7: Liofilizadora**



**Anexo 6: Sonicación**

